

## Efektivna veličina populacije buše i gatačkog govečeta: ekološki i molekularni pristup

Biljana Rogić<sup>1</sup>, Božo Važić<sup>1</sup>, Mila Savić<sup>2</sup>,  
Nebojša Savić<sup>1</sup>, Marina Stamenković Radak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjaluci, Bosna i Hercegovina

<sup>2</sup> Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija

<sup>3</sup> Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija

### Sažetak

Efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) je jedan od osnovnih parametara populacione genetike. Praćenje efektivne veličine populacije zajedno sa praćenjem genetičke varijabilnosti je veoma značajno za populaciono genetička istraživanja i ima veliku primjenu u uspostavljanju konzervacione strategije. U radu je izračunata  $N_e$  za populaciju buše sa dva lokaliteta (istočna i zapadna Hercegovina) i populaciju gatačkog govečeta iz regije Hercegovina. Korišćene su dvije metode za računanje  $N_e$  i to: ekološka i molekularna metoda. Za ekološku metodu izračunavanja efektivne veličine populacije korišćen je broj mužjaka i ženki koje se pare.  $N_e$  prema molekularnim metodama je računata na osnovu varijacije broja ponovaka (SSMM), kao i na osnovu očekivane heterozigotnosti (IAM). Ekološka  $N_e$  je u odnosu na cenzus ( $N$ ) u opsegu očekivanom za populacije goveda i kretala se od 7,5 do 18,5. Molekularna  $N_e$  prema IAM metodi se kretala od 3040 do 3947, a prema SSMM metodi se kretala od 28875 do 35196. Dobijeni rezultati ukazuju na značaj molekularnih metoda u ocjeni  $N_e$  kao parametra u konzervaciji autohtonih goveda.

*Ključne riječi:* efektivna veličina populacije, goveda, konzervaciona genetika

### Uvod

Kada se govori o autohtonim rasama goveda u Bosni i Hercegovini, odnosno Republici Srpskoj, onda se misli na bušu i gatačko goveče. Buša je na prostorima BiH opstala na nekoliko individualnih domaćinstava na području Hercegovine, kao i u sklopu Udruge za zaštitu i očuvanje izvornih pasmina domaćih životinja u Širokom Brijegu. Prema procjenama danas na području BiH opstalo je oko 150 grla rase buša. Gatačko goveče je danas široko rasprostranjeno na području istočne Hercegovine i

prema procjenama danas postoji oko 8000 grla u tipu gatačkog govečeta. Dosadašnja istraživanja morfometrijskih karakteristika ukazuju na značajnu varijabilnost, kao i na razliku u konstituciji buše i gatačkog govečeta (Rogić i sar., 2011a, b). Istraživanja genetičke varijabilnosti buše i gatačkog govečeta ukazuju na visoku i očuvanu genetičku heterogenost ovih populacija goveda (Rogić i sar., 2011c).

Koncept efektivne veličine populacije ( $N_e$ ) uveo je Sewall Wright tridesetih godina. Efektivna veličina populacije predstavlja broj jedinki koji doprinose svojim gametima sledećoj generaciji. Ne se definiše kao veličina idealizovane populacije koja bi dala porast varijanse promene genske učestalosti, ili stope inbridinga nadjenih u populaciji koja se posmatra.

Uzroci koji dovode do toga da je u prirodi efektivna brojnost populacije manja od stvarnog broja su: periodična razlika među polovima u broju jedinki koje se pare, razlika u broju gameta kojima se doprinosi sledećoj generaciji, u postojanju inbridinga, u variranju starosne strukture populacije i variranju brojnosti populacije u vremenu. Efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) predstavlja broj jedinki koje realno učestvuju u stvaranju potomstva i razlikuje se od prostog broja jedinki. tj. cenzusa,  $N_e$  predstavlja jedan od osnovnih parametara u populacionoj genetici (Charlesworth, 2009). Populaciono genetička istraživanjima bazirana na praćenju efektivne veličine populacije, paralelno sa praćenjem genetičke varijabilnosti, značajna su u formiranju adekvatnog programa očuvanja ugroženih vrsta i rasa domaćih životinja.

Uobičajene procjene efektivne veličine populacije su na osnovu brojnosti polova, i na bazi DNK varijabilnosti ponovaka, mikrosatelita. Računanje na bazi mikrosatelita koristi očekivanu heterozigotnost i postoje tri različita mutaciona modela i to: IAM ili infinite-alleles model ( $H=4N_e\mu/(1+4N_e\mu)$ ; (Kimura & Crow, 1964), SMM ili stepwise mutation model ( $H=1-(1/(1+8N_e\mu)^{1/2})$ ), (Ohta & Kimura 1973), dok je SSMM ili single-step stepwise mutation model ( $\text{var}(n_A)=4N_e\mu$ ), (Slatkin, 1995) zasnovan na varijansi broja ponovaka.

U stočarstvu efektivna veličina populacije varira od 15 do 258, a odnos  $N_e$  i ukupnog broja grla varira od 0,001 do 29%, odnosno u govedarstvu  $N_e$  varira od 17 do 258, dok je odnos  $N_e$  i ukupnog broja grla varira od 0,001-17% (Hall, 2004). Medugorac et al. (2009) su u svojoj studiji istraživanja genetičkog diverziteta tradicionalnih evropskih rasa goveda veliki značaj dali upravo efektivnoj veličini populacije, ističući da je očuvanje rijetkih alela u populaciji moguće upravo očuvanjem tradicionalnih rasa sa visokom efektivnom veličinom populacije.

Cilj rada je da se, korištenjem ekološkog i genetičkog pristupa, procjeni efektivna veličina populacije buše i gatačkog govečeta, kao i da se na osnovu dobijenih vrijednosti procjeni ugroženost autohtonih rasa goveda iz regije Hercegovina sa aspekta njihove brojnosti i genetičke varijabilnosti.

## Matrijal i metod rada

Kao parametar za ekološku metodu izračunavanja efektivne veličine populacije korišten je broj mužjaka i ženki koje se pare i za koji se pretpostavlja da je jednak kroz generacije i u tom slučaju je  $N_e=4mf/N$ . Ovo pokazuje da je  $N_e$

maksimalno (i jednako  $N$ ), kada je odnos polova jednak. U ostalim slučajevima je  $N_e < N$ . Ovo takođe pokazuje da brojnost manje zastupljenog pola, što je u ovom radu muški pol, ima veći uticaj na efektivnu veličinu populacije.

Efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) molekularnim metodama, računata je na osnovu varijacije broja ponovaka, odnosno prema single-step stepwise mutacionom modelu (SSMM:  $\text{var}(nA) = 4N_e\mu$ ; Slatkin 1995), kao i na osnovu očekivane heterozigotnosti, odnosno prema infinite-alleles modelu (IAM:  $H = 4N_e\mu / (1 + 4N_e\mu)$ ; Kimura & Crow 1964). Mutaciona stopa ( $\mu$ ) od  $1,4 \times 10^{-4}$  korištena je za preračunavanje efektivne veličine populacije (Kantaten et al., 2000).

## Rezultati i diskusija

Parametri ekološkog pristupa za veličinu populacije ( $N$ ), efektivnu veličinu populacije ( $N_e$ ) i njihov odnos ( $N_e/N$ ) za tri populacije goveda su prikazani u tabeli 1. Rezultati ukazuju na značajno manji broj muške populacije u odnosu na žensku za sve tri populacije. Najpovoljniji omjer polova je karakterističan za populaciju gatačkog govečeta, što je bilo i za očekivati s obzirom da ova populacija ujedno ima najveću ukupnu brojnost, pa samim tim je i broj mužjaka znatno veći u odnosu na populaciju buše sa oba lokaliteta. Na osnovu dobijenih vrijednosti efektivne veličine populacije može se konstatovati ugroženost buše sa aspekta njene brojnosti.

Kada se posmatra odnos efektivne veličine populacije sa cenzusom, odnosno ukupnom veličinom populacije, može se konstatovati da su dobijene vrijednosti dosta ujednačene za sve tri populacije goveda. Takođe, poredeći tako dobijene vrijednosti sa vrijednostima karakterističnim za stočarstvo, odnosno govedarstvo (Hall, 2004), može se konstatovati da su dobijene vrijednosti u nivou očekivanom za populacije goveda. odnosno efektivna veličina populacije na osnovu polova ukazuje na značajnu ugroženost buše sa aspekta brojnosti.

Tab. 1. Ekološki pristup: veličina populacije ( $N$ ), efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) i odnos efektivne veličine populacije i cenzusa ( $N_e/N$ )

*Ecological approach: population size ( $N$ ), effective population size ( $N_e$ ) and their ration ( $N_e/N$ )*

	Nf	Nm	Veličina populacije / Population size		
			N	$N_e$	$N_e/N$
GG	60	5	65	18,46	0,28
BIH	35	2	37	7,58	0,21
BZH	36	3	39	11,08	0,28

Nf-broj ženki; Nm-broj mužjaka; GG-gatačko goveče, BIH-buša istočne Hercegovine; BZH-buša zapadne Hercegovine

*Nf – number of females, Nm number of males, GG – Gatačko cattle, BIH – eastern Herzegovina Busha, BZH – western Herzegovina Busha*

Varijabilnost mikrosatelita na osnovu varijanse broja ponovaka i očekivane heterozigotnosti predstavljena je u tabeli 2. Dobijene vrijednosti očekivane heterozigotnosti za sve tri populacije goveda su dosta ujednačene. Najviša vrijednost očekivane heterozigotnosti zabilježena je za populaciju buše istočne Hercegovine (0,69), a najniža za populaciju gatačkog govečeta (0,63). Poredeći dobijenu heterozigotnost sa prethodnim istraživanjima može se konstatovati visoka genetička heterogenost buše i gatačkog goveda (Medugorac et. al., 2009; Ramljak et. al., 2008; Li et. al., 2007). Najvišu varijansu u broju ponovaka (20) takođe je imala populacija buše istočne Hercegovine, a kod populacija buše zapadne Hercegovine (16) i gatačkog govečeta (17) su bile ujednačene.

Tab. 2. Varijansa broja ponovaka i očekivana heterozigotnost za korišćene mikrosatelite

*Variances in repeats number and expected heterozygosity of the microsatellite loci used in the analysis*

Lokus <i>Locus</i>	Varijansa broja ponovaka <i>Variance of repeats number</i>			Očekivana heterozigotnost <i>Expected heterozygosity</i>		
	GG	BIH	BZH	GG	BIH	BZH
BM1818	5	4	18	0,6989	0,5739	0,6869
BM1824	21	13	18	0,7570	0,7571	0,7044
BM2113	16	26	27	0,8117	0,8159	0,8376
ETH3	22	13	18	0,6688	0,4660	0,7207
ETH10	5	7	3	0,6428	0,7579	0,5036
ETH152	5	7	2	0,7080	0,7689	0,6469
ETH225	6	11	29	0,6400	0,7813	0,7265
HEL1	17	35	12	0,6233	0,7053	0,7712
HEL9	25	21	15	0,7888	0,6968	0,3861
ILSTS005	1	6	1	0,4958	0,5169	0,2742
ILSTS006	10	9	9	0,7008	0,6968	0,6099
INRA05	5	1	1	0,3750	0,5304	0,4299
INRA23	31	29	12	0,8398	0,8378	0,5910
INRA32	5	3	11	0,6490	0,6889	0,7183
INRA35	9	12	3	0,5124	0,5844	0,4202
INRA63	2	8	5	0,5114	0,7104	0,6736
TGLA53	51	53	40	0,8438	0,8016	0,8318
TGLA122	60	102	74	0,7264	0,7933	0,8220
TGLA126	8	7	3	0,6313	0,6470	0,4669
TGLA227	31	35	43	0,8318	0,7865	0,7673
SPS115	8	13	21	0,3684	0,5407	0,6383
Sredina <i>Medium</i>	16	20	17	0,6587	0,6885	0,6299

GG-gatačko goveče, BIH-buša istočne Hercegovine; BZH-buša zapadne Hercegovine

GG – Gatačko cattle, BIH – eastern Herzegovina Busha, BZH – western Herzegovina Busha

Molekularni, odnosno genetički pristup, u procjeni efektivne veličine populacije korišćenjem dva mutaciona modela (SSMM i IAM) prikazani su u tabeli 3. Rezultati bazirani na primjeni mikrosatelita su pokazali značajno više vrijednosti efektivne veličine populacije za sve tri populacije goveda u odnosu na ekološki pristup.

Tab. 3. Genetički pristup: efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) na bazi mikrosatelita  
*Genetic approach: estimation of effective population size ( $N_e$ ) using microsatellite data*

	GG	BIH	BZH
SSMM	28875	35196	31125
IAM	3448	3947	3040

GG-gatačko goveče, BIH-buša istočne Hercegovine; BZH-buša zapadne Hercegovine  
*GG – Gatačko cattle, BIH – eastern Herzegovina Busha, BZH – western Herzegovina Busha*

Dobijene vrijednosti efektivne veličine populacije molekularnim metodama takođe govore u prilog visoke i očuvane genetičke varijabilnosti ovih populacija goveda, što je u skladu sa rezultatima do kojih su došli Medugorac et. al. (2009). Ovako dobijeni rezultati ukazuju da je praćenje efektivne veličine populacije, zajedno sa praćenjem genetičke varijabilnosti, veoma značajno za populaciono genetička istraživanja i ima veliku primjenu u uspostavljanju konzervacione strategije.

## Zaključak

Ekološka efektivna veličina populacije ukazuje na ugroženost buše kao autohtone rase goveda sa aspekta brojnosti. Na osnovu visokog nivoa genetičke varijabilnosti kao i činjenice da je omjer efektivne veličine populacije i censusa na nivou očekivanom za populaciju goveda može se konstatovati da buša predstavlja vrijedan genetički resur. Na kraju treba istaći da, iako napredak u molekularnoj genetici nudi velike mogućnosti u analizi efektivne veličine populacije, ipak kombinovanje oba pristupa (ekološkog i molekularnog) su neophodna u praćenju efektivne veličine populacije.

## Literatura

- Charlesworth, B. (2009). Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews*, 10, 195-205.
- Hall, S. J. G. (2004). *Livestock biodiversity: genetics reasurse for the farming of the future*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Kantanen, J., Olsaker, I., Holm, L.E., Lien, S., Vilkki, J., Brusgaard, K., Eythorsdottir, E., Danell, B. & Adalsteinsson, S. (2000). Genetic diversity and population

- structure of 20 North European cattle breeds. *The Journal of Heredity*, 91(6), 446-457.
- Kimura, M. & Crow, J.F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49, 725 - 738.
- Li, M.H., Tapio, I., Vilkki, J., Ivanova, Z., Kiselyova, T., Nurby, M., Činkučov, M., Stojanović, S., Innokenty, A., Popov, R. & Kantanen, J. (2007). The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighboring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. *Molecular Ecology*, 16, 3839-3853.
- Medugorac, I., Medugorac, A., Russ, I., Veit-Kensch, C.E., Taberlet, P., Luntz, B., Mix, H.M. & Forster, M. (2009). Genetic diversity of European cattle breeds highlights the conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. *Molecular Ecology*, 18, 3394-3410.
- Ohta, T. & Kimura, M. A. (1973). Model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. *Genet Res.* 22(2), 201–204.
- Ramljak, J., Ivanković, A., Medugorac, I., Caput, P. & Konjačić, M. (2008). *Microsatellite genotyping of Busha in Croatia*. Paper presented at 42<sup>nd</sup> Croatian and 2<sup>nd</sup> International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia.
- Rogić, B., Važić, B., Jovanović, S., Stamenković-Radak, M., Savić, M. i Ravić, I. (2011a). Ispitivanja varijabilnosti morfometrijskih karakteristika buše i gatačkog govečeta u cilju očuvanja autohtonog genoma. *Veterinarski glasnik*, 65(1-2), 61-69.
- Rogić, B., Važić, B., Jovanović, S., Savić, M. i Ravić, I. (2011b). Značajniji tjelesni indeksi buše i gatačkog govečeta. *Agrozanje*, 12(2), 197-202.
- Rogić, B., Tomić, L., Važić, B., Jelić, M., Jovanović, S. & Savić, M. (2011c). Assessment of genetic diversity of Buša cattle from Bosnia and Herzegovina using microsatellite DNA data. *Archive of Biological Science*, 63(4), 1077-1085.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, 457–462.

# Effective Population Size in Busha and Gatačko Cattle from Herzegovina: Ecological and Molecular Approach

Biljana Rogić<sup>1</sup>, Božo Važić<sup>1</sup>, Mila Savić<sup>2</sup>,  
Nebojša Savić<sup>1</sup> Marina Stamenković Radak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, University of Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

<sup>2</sup> Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Serbia

<sup>3</sup> Faculty of Biology, University of Belgrade, Serbia

## Abstract

The effective population size ( $N_e$ ) is one of basic core concepts in population genetics. Monitoring the effective population size, which is parallel to monitoring genetic variability, is of importance to population genetic studies and is applicable in conservation strategies. In this study  $N_e$  was estimated for two population of Busha from two locations (eastern and western Herzegovina) and population of Gatačko cattle from Herzegovina region. Two methods were used to estimate  $N_e$ : ecological and molecular. The ecological method of estimating effective population size used the number of males and females used in breeding. Molecular methods for estimating  $N_e$  used data of variance of repeat number (SSMM), and the expected heterozygosity (IAM). The obtained ecological  $N_e$  (7,5 to 18,5) as proportional to census is within the range expected for cattle. Molecular  $N_e$  according to the IAM method ranged from 3040 to 3947, and according to the SSMM method ranged from 28875 to 35196. The results indicate the importance of molecular methods in the assessment of  $N_e$  as valuable parameter in conservation of autochthonous cattle species.

*Kew words:* effective population size, cattle, conservation genetics

Biljana Rogić

*E-mail address:*

*biljana.rogic@agrofabl.org*